

FUSARIUM REZISZTENCIA MOLEKULÁRIS VIZSGÁLATA FRONTANA TÉRKÉPEZŐ POPULÁCIÓKBAN

**SZABÓ-HEVÉR ÁGNES, LEHOCZKI-KRSJAK SZABOLCS, TÓTH BEÁTA, PAUK JÁNOS,
LANTOS CSABA, PURNHAUSER LÁSZLÓ, MESTERHÁZY ÁKOS**

Gabonakutató Nonprofit Kft.
6726 Szeged, Alsó kikötő sor 9.
agnes.szabo@gabonakutato.hu

ABSTRACT – Molecular mapping of *Fusarium* resistance in Frontana mapping populations

Fusarium head blight (FHB) is a devastating disease of wheat (*Triticum aestivum* L.). This study investigates the Austrian Frontana/Remus DH population from IFA, Tulln (n=210) and the Mini Manó/Frontana DH population from CRC, Szeged (n=169) to map and validate the *Fusarium* resistance QTL as well as QTL which are linked to plant height or heading date. Artificial inoculations were made by independent isolates of *F. graminearum* and *F. culmorum*. The Frontana/Remus population had wide differences in flowering time and the parents were unlike in awnless. To decrease the heterogeneity, a more uniform population of Mini Manó/Frontana was bred. While in the Frontana/Remus population a dense linkage map was available for QTL mapping, the Mini Manó/Frontana population was genotyped with selected markers for suspected QTL regions at 3A, 3B, 5A, 6B, 7A chromosomes. In the Frontana/Remus population, QTL were identified on the chromosomes 2B, 2D, 3A, 3D, 4A, 4B, 5A, 6B, 7B for *Fusarium* resistance, while in the Mini Manó/Frontana population chromosome 5A, 6B showed significant association with the FHB and FDK (*Fusarium* damaged kernel) data. Among the QTL found in IFA Tulln (2B, 3A, 4B, 5A, and 6B), the QTL on 5A and 6B could be confirmed in Hungary in both populations. In the Frontana/Remus population QTL on 1A, 2D, 7B chromosomes were identical for heading date. In the Mini Manó/Frontana population QTL, linked to plant height were mapped on 3B, 5A and 6B chromosomes. The number of analyzed epidemic situations (15) is unique in the *Fusarium* literature, and led to a more accurate QTL validation.

Keywords: *Triticum aestivum*, *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, QTL, *Fusarium* Head Blight, *Fusarium* damaged kernels, resistance

BEVEZETÉS

A fuzáriumos kalászhéris - (*Fusarium* head blight, FHB) világszerte a búza (*Triticum aestivum* L.) egyik legveszélyesebb betegsége. A *Fusarium* fajok termelik az ismert mikotoxinoknak mintegy egyharmadát (DEÁK, 2006), így veszélyességük a termés-veszteség okozásán kívül a toxinok emberi és állati szervezetre gyakorolt hatásában rejlik. A fuzárium elleni védekezés legkörnyezetkímélőbb módszere a helyes fajtaválasztás. A nemesítők lelkiismeretes munkája ellenére azonban a kórokozó szaporodásához kedvező időjárás és agrotechnika esetén elfogadhatatlanul nagymértékű fertőzöttségek alakulnak ki. A fuzárium rezisztenciára történő nemesítést nehezíti, hogy a fogékonyság mértékének korlátozásában akár morfológiai, vagy fejlődésbiológiai tulajdonságok is szerepet kaphatnak, mint a tarkalászsúság, a nem túl alacsony növénymagasság, jó szárszilárdság, egyöntetű gyors virágzás stb. (BÉKÉSI (A), 2010). Megfelelő rezisztenciaforrások ugyan vannak, azonban ezek számos más vonatkozásban gyengék, ezért nagyon nehéz a szükséges tulajdonságokat egy növényben kombinálni (MESTERHÁZY ÁKOS, szóbeli közlés).

A genetikai markerek alkalmazása a rezisztenciára történő nemesítést megkönnyítheti és meggyorsíthatja. Ehhez azonban olyan markerek azonosítására van szükség, melyek kapcsolatosak azzal a tulajdonsággal, amire szelektálni kívánunk. BUERSTMAIR ÉS MTSAI (2009) összefoglalója szerint búzában a 7D kromoszómát kivéve 22 olyan régiót írtak már le, melyek fuzárium rezisztencia kialakításával voltak kapcsolatosak különböző térképező

populációk vizsgálata során. Ezek az úgynevezett mennyiségi tulajdonságért felelős régiók, azaz QTL-ek (quantitative trait loci). Az eddig leírt legfontosabb, több független térképező populációban validált fuzárium rezisztencia QTL-t a 2D, 3BS, 3BSc, 4B, 5AS és 6B kromoszómákon azonosították (LIU ÉS MTSAI 2007; MCCARTNEY ÉS MTSAI 2004; YU ÉS MTSAI 2006).

A legpontosabban térképezett QTL-ek a 3B kromoszómán a *Fhb1* és a 6B kromoszómán a *Fhb2* régiók, melyeket leggyakrabban ázsiai eredetű rezisztenciaforrásokban vizsgáltak, mint például a kínai Sumai 3 (WALDRON ÉS MTSAI 1999; ANDERSON ÉS MTSAI 2001; BUERSTMAYR ÉS MTSAI 2002, 2003; SOMERS ÉS MTSAI 2003; LEMMENS ÉS MTSAI 2005; CUTHBERT ÉS MTSAI 2006). A markerekre alapozott szelekcióra (MAS: marker-assisted selection) már évek óta történnek próbálkozások a fuzárium rezisztenciakutatásban, melyek során többnyire az előbb említett két kromoszómaregió jelenlétének hatására koncentrálnak, de történtek vizsgálatok az 5A kromoszómán található QTL fuzárium rezisztenciára gyakorolt hatásával kapcsolatosan is (GUPTA ÉS MTSAI 2010; SALAMEH ÉS MTSAI 2010; VON DER OHE ÉS MTSAI 2010). Ezek a kísérletek is alátámasztották, hogy a rezisztenciaforrások körének bővítésére van szükség ahhoz, hogy a genetikai diverzitást szélesítsük, és hogy a növényanyagok FHB rezisztencia szintjét növelni tudjuk (RUCKENBAUER ÉS MTSAI 2001; GERVAIS ÉS MTSAI 2003).

Az egyik ilyen rezisztenciaforrás a brazil, közepes rezisztenciával rendelkező Frontana, mely a Fronteira/Mentana keresztezésből származik (SCHROEDER ÉS CHRISTENSEN 1963; VAN GINKEL 1996). A Frontana fuzárium rezisztenciájának genetikai hátterét már több kutatócsoport is vizsgálta. SINGH ÉS MTSAI (1995) megállapítása szerint minimum három fő gén additív kölcsönhatása eredményezheti a fent említett rezisztenciát. STEINER ÉS MTSAI (2004) a Frontana/Remus populációban térképezték a 3A, 5A, 2B, 4B, 6B kromoszómákra Frontana eredetű, és a 1B, 2A, 3B kromoszómákra Remus eredetű – ún. I. Típusú - fuzárium rezisztencia QTL-eket. MARDI ÉS MTSAI (2006) a Frontana/Falat populáció térképezése során megerősítették a Frontana 3AL kromoszómáján elhelyezkedő fuzárium rezisztencia QTL jelenlétét és két további azonosítottak a 1BL és 7AS kromoszómákon. SIRINVASACHARY ÉS MTSAI (2008) az 1B, 2B, 3A, 6A, 6B 7A és 7D kromoszómákon kalászfuzárium rezisztenciával kapcsolt Frontana eredetű QTL-eket azonosítottak, míg a 2B, 4A és 5B kromoszómákon növénymagasságért, valamint szálkasságra a 2B kromoszómán felelős QTL-eket írtak le. Tehát az azonosított QTL-ek a különböző vizsgált populációkban eltértek.

A térképezett mennyiségi tulajdonságokért felelős kromoszómaszakaszok jelenlétét több eltérő környezetben szükséges vizsgálni (DRAEGER ÉS MTSAI 2007), különös tekintettel a kis és közepes hatékonyságú QTL-ekre, melyek kimutathatósága nagymértékben függ a környezeti hatásoktól (SZABO-HEVER ÉS MTSAI 2008).

Kísérletünk során célunk volt a növénymagasság és a kalászolás időpontjával kapcsolt kromoszómaszakaszok azonosítása és azok kapcsolatának vizsgálata a fuzárium rezisztenciával. Ezen túl a Frontana *Fusarium* rezisztenciáért felelős kromoszómaszakaszait két DH populációban, több (összesen 15) epidémiái környezetben hitelesítettük. Olyan molekuláris markereket kerestünk, melyek elkülöníthetők a fertőzöttséget befolyásoló tulajdonságokért felelős kromoszómaszakaszoktól és alkalmasak a validált QTL-ek jelenlétének jelzésére, így alkalmazhatóak lesznek a markerekre alapozott szelekció folyamán.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Növény anyagok

A vizsgált két populációt a Frontana Remusszal, valamint a Mini Manó Frontanával történő keresztezéséből állították elő. A Frontana (Fronteira/Mentana) egy tavaszi, Fusarium ellenálló, brazil búzafajta. Az Ausztriából (IFA-Tulln) eredő Frontana/Remus populáció létrehozásakor a fogékony partner a Németországból származó Remus volt. Ezt a növényanyagot vizsgálta STEINER ÉS MTSAI (2004), melynek során több QTL-t azonosítottak. Kísérleteink során ugyanezt a növényanyagot vizsgáltuk (210 vonal), 2002-től 2006-ig. A DH vonalak között azonban különböző - fuzárium fertőzöttséget befolyásoló - fenotípusos különbségek voltak, így virágzási időpontot és szálkasságot illetően is eltérések voltak. Szegeden a Gabonakutató Kft.-ben egy olyan térképező populációt kívántunk előállítani, amely homogénebb az előbb említett fenotípusos tulajdonságok tekintetében. Mindezt a Mini Manó/Frontana populációban kívántuk elérni, melyben a fogékony szülő, egy korábbi nemesítési vonal, a GK Mini Manó volt. Ennek az anyagnak szántóföldi vizsgálatát, valamint a genotipizálását 2008-ban és 2009-ben végeztük.

Szántóföldi kísérlet leírása

A növényanyagokat ősszel (október közepe) vetettük. A parcellák 1,5 m hosszú, és az alkalmazott izolátumok számával megegyező számú sorból álltak. Minden izolátumot 2 ismétlésben alkalmaztunk, az ismétlések megközelítőleg 20 kalászt tartalmazó kalászcsoportok voltak.

Inokulációs módszer

Kísérletünkben az izolátumok agresszivitásának *in vitro* vizsgálatát és a teljes virágzásban történő mesterséges inokulációt MESTERHÁZY (1985, 1987, 1995) módszere alapján végeztük. A növényanyagokat évjáráttól függően 2-6 *F. graminearum*, illetve *F. culmorum* izolátummal inokuláltuk. Az inokulációt követően a fertőzött kalászcsoportokat polietilén zacskóval fedtük le 48 órára. A zacskók eltávolítását követően a csoportokat az azonosítást elősegítő címkével együtt a szabad asszimiláció érdekében lazára kötöttük.

Tünetfelvételezés

A mesterséges inokulációt követő 10. napon kezdődtek a kalászfertőzöttség felvételezései és folytatódott azt követően minden 4. napon egészen a kalászok sárgulásáig. A fertőzöttségi értékeket az összes kalászka százalékában becsültük. A csoportok aratását követően a mintákat csépeltük és kis légsebesség mellett tisztítottuk úgy, hogy a töppedt, zsugorodott fuzáriumos szemeket ne veszítsünk. Ezt követően szintén egy 0-tól 100-ig terjedő skála szerint állapítottuk meg a fuzáriumos szemek arányát (FDK értékek).

Egyéb fenotípusos tulajdonságok

Minden kísérletben felvételezésre került a növénymagasság, dőlés, a kalácsolási és virágzási időpont, valamint egyéb betegségek, mint lisztharmat, szárrozsda, levélrozsda jelenlétét is feljegyeztük.

Molekuláris markerek

A Frontana/Remus populációban 583 marker (135 mikroszatellit, 416 AFLP és 32 RFLP marker) adatát bocsájtotta rendelkezésünkre a már említett osztrák kutatócsoport. Ugyanezt az adatbázist használták ők is térképezésük során: STEINER ÉS MTSAI (2004). Ezen a populáción a Gabonakutató Kft.-ben 45, míg a Mini Manó populáción 40 SSR markert alkalmaztunk, melyeket irodalmi adatok szerint választottunk (RÖDER 1998; STEINER ÉS MTSAI 2004; SOMERS ÉS MTSAI 2004; MARDI ÉS MTSAI 2006). A Mini Manó/Frontana populációban már azon markereket használtuk, melyek a Frontana/Remus populációban erős kapcsoltságot mutattak a fuzárium rezisztenciával. Az SSR markereknél használt PCR reakciót kisebb változtatásokkal PURNHAUSER ÉS MTSAI (2011) szerint állítottuk össze.

Statisztikai analízis

A statisztikai analízist SPSS 15.0 szoftver segítségével végeztük a „Descriptive statistics”, „Compare means” és a „General Linear Model” funkciókat használva. Az adatokat úgy értékeltük ki, hogy minden izolátumot egy-egy epidémiái szituációnak, vagy kísérletnek vettünk. A normális eloszlás feltételeinek a Frontana/Remus populáció esetében 14-ből 8, míg a Mini Manó/Frontana populációban pedig 12-ből 7 epidémiái szituáció eredménye felelt meg, így a további analíziseket ezekkel az adatsorokkal végeztük el. Az örökölhetőséget NYQUIST (1991) szerint számoltuk: H^2 kísérletek között = $1 - (MS_{G \times E} / MS_G)$. ($MS_{G \times E}$: közepes négyzetes eltérés genotípus x kísérlet; MS_G : közepes négyzetes eltérés genotípus).

QTL analízis

A kapcsolság csoportok meghatározásához a JoinMap[®] 3.0 (VAN OOIJEN ÉS VOORRIPS 2001), térképezéshez pedig a MapQTL[®] 5 (VAN OOIJEN 2004) szoftvereket használtuk. A térképezést minden epidémiái szituáció adatával (FHB és FDK) elvégeztük külön-külön, és azok átlagával is. Továbbá az egyéb fuzáriumot befolyásoló tulajdonságokkal való kapcsolságot is vizsgáltuk, mint dőlés, növénymagasság és kalászolási időpont.

EREDMÉNYEK**Fenotípusos adatok**

Az analízisekbe kizárólag azon epidémiái szituációk adatait vontuk be, melyek megfeleltek a normális eloszlás követelményeinek és a szülők a rezisztenciaszintjüknek megfelelő helyen álltak a populáció vonalaihoz mérten. A növénymagasságot illetően a Mini Manó/Frontana populáció szélső értékei nagyobb eltérést mutattak, mint a Frontana/Remus populációban, míg a virágzási időpontot illetően az osztrák növényanyagban tapasztalt 8 napos virágzási eltérést a Gabonakutató Kft.-ben kifejlesztett anyagban 4 napra sikerült csökkentenünk, és ez a különbség jelen volt a kalászolási időpontot illetően is, ami 19-ről 14-napra csökkent. A különböző fertőzési időpontú növénycsoportok fertőzöttségi értékeit az 1. táblázatban mutatjuk be, melyből látható, hogy a később fertőzött – tehát később virágzott - csoportok FHB értéke az esetek többségében magasabb, míg az FDK (szemfertőzöttségi) értékek esetében ez kevésbé jellemző, stabilabb adatokat mutatnak.

Az FHB és FDK értékekkel végzett varianciaanalízis eredménye (2. táblázat) azt mutatja, hogy a genotípus hatás szignifikánsan különbözik a genotípus x epidémiái szituáció kölcsönhatástól, ami arra utal, hogy alapvetően a rangsor hasonló a két adatsorban. Az örökölhetőségi vizsgálatok azt mutatják, hogy a kísérletben a genotípusok reakciója hasonló volt a fuzárium fertőzésre a különböző epidémiái szituációk során, mivel a Frontana/Remus populáció FHB adataival ez az érték 0,75, FDK értékekkel 0,80 volt, míg a Mini Manó/Frontana populáció FHB adatai között 0,89, FDK értékei között pedig 0,82 volt az örökölhetőségi érték.

1. táblázat: A kalászfertőzöttségi és szemfertőzöttségi adatok alakulása a Frontana/Remus (A) és a Mini Manó/Frontana populációban (B), valamint a csoportok közötti különbségek szignifikanciája (* = szignifikáns 0,05 szinten; ** = szignifikáns 0,01 szinten). Adatok az izolátumok átlagában.

A fertőzési				B fertőzési			
év	időpont	FHB	FDK	év	időpont	FHB	FDK
2002	1	58,2	65,9	2008	1	40,4	71,1
	2	30,8	46,9		2	53,9	82,7
	3	38,3	39,8		átl.	47,2	76,9
	4	62,8	54,2	sig. 0,000**			0,000**
	átl.	47,5	51,7	2009	1	20,8	35,0
sig. 0,000**			0,000**		2	26,2	57,0
2004	1	17,6	65,5		átl.	23,5	46,0
	2	19,5	66,2	sig. 0,002**			0,000**
	3	20,5	59,5	2005	1	18,4	45,2
	4	42,0	68,5		2	38,1	51,5
	5	50,6	45,5		átl.	28,3	48,4
	átl.	30,0	61,0		sig. 0,000**		0,092
sig. 0,000**			0,003**	2006	1	23,7	42,8
2005	1	18,4	45,2		2	30,7	35,9
	2	38,1	51,5		átl.	27,2	39,4
	átl.	28,3	48,4	sig. 0,000**			0,014*
sig. 0,000**			0,092				
2006	1	23,7	42,8				
	2	30,7	35,9				
	átl.	27,2	39,4				
sig. 0,000**			0,014*				

2. táblázat: A Frontana/Remus (A) és a Mini Manó/Frontana populáció (B) FHB és FDK adatainak varianciaanalízise (kísérlet = epidémiái szituáció)

A	FHB				FDK			
	df	MS	F-value	P	df	MS	F-value	P
Kísérlet	7	52857,22	1877,39	<0,0001	7	67841,47	548,82	<0,0001
Genotípus	209	1484,17	52,71	<0,0001	209	3373,24	27,29	<0,0001
Genotípus x Kísérlet	1388	365,38	12,98	<0,0001	1388	678,75	5,49	<0,0001
Hiba	1605	28,15			1605	123,61		

B	FHB				FDK			
	df	MS	F-value	P	df	MS	F-value	P
Kísérlet	6	65887,50	2778,00	<0,0001	6	107347,06	1666,22	<0,0001
Genotípus	167	1519,98	64,09	<0,0001	167	3031,11	47,05	<0,0001
Genotípus x Kísérlet	999	173,25	7,30	<0,0001	999	542,93	8,43	<0,0001
Hiba	1173	23,72			1173	64,43		

A kalász, ill. szemfertőzöttség, a növények dőlése, növénymagasság és kalászolási időpont közötti korrelációkat a 3. táblázatban tüntettük fel. Ebből kiderül, hogy a Frontana/Remus populációban az FHB adatok csak az FDK értékekkel, valamint a kalászolási időponttal mutattak összefüggést, valamint az FDK adatsor mindhárom fertőzöttséget befolyásoló fenotípusos tulajdonsággal mutatott szignifikáns korrelációt. Míg az osztrák növényanyagban a növények dőlése, növénymagasság és kalászolási időpont között összefüggés volt kimutatható, addig a homogénebb Mini Manó/Frontana populációban csak az FDK adatokkal mutatott gyenge korrelációt a kalászolási időpont. Ebben a növényanyagban azonban nem csak FDK értékeket, hanem az FHB adatokat is negatívan befolyásolta a nagyobb dőlés és növénymagasság.

3. táblázat: A Frontana/Remus (A) és a Mini Manó/Frontana populációban (B) tapasztalt növények dőlése (%), növénymagasság (cm), és kalászolási időpont (nap) valamint az FHB és FDK adatainak korrelációanalízise (** = szignifikáns 0,01 szinten)

A	FHB	FDK	Dőlés	Növénymagasság
FDK	0,51**			
Dőlés	0,03	-0,19**		
Növénymagasság	0,09	-0,32**	0,53**	
Kalászolási időpont	0,36**	-0,30**	0,18**	0,34**
B	FHB	FDK	Dőlés	Növénymagasság
FDK	0,68**			
Dőlés	-0,36**	-0,31**		
Növénymagasság	-0,52**	-0,51**	0,68**	
Kalászolási időpont	0,09	0,25**	-0,13	-0,05

Genotípusos adatok

A Frontana/Remus populációban az 583 marker adatát 44 kapcsoltsági csoportba térképeztük be, mely összesen 1643 cM genetikai távolságot foglalt magában. A Mini Manó/Frontana populációban a 40 marker adatát 146 cM-t átfogó 5 kapcsoltsági csoportba térképeztük a 3A, 3B, 5A, 6B és 7A kromoszómákra.

Tulajdonságok térképezése

A QTL analízist a különböző epidémiái szituációk adataival külön-külön és azok átlagával is kiszámoltuk mindkét populáció esetében. A két vizsgálati módszerrel kapott eredmények azonban nem tértek el szignifikánsan egymástól. Az átlagokkal kapott térképezési eredményeket a 4. táblázatban tüntettük fel a LOD (logarithm of odds) és VE (explained phenotypic variance: a fenotípusos variancia hány százalékát magyarázza az adott QTL).

Mennyiségi tulajdonságokért felelős kromoszómaszakaszok a Frontana/Remus populációban

A legnagyobb hatású QTL-t a 7B kromoszómára térképeztük (*Xs12m25_2*), mely kromoszómaszakaszon a kapcsoltság erősségét jelző LOD érték FHB adatokkal 4,05, FDK adatokkal 3,88 volt. Ezen a kívül a 2B és 3A kromoszómákon azonosítottunk olyan szakaszokat melyek mindkét fuzárium fertőzöttségi adatsorral mutattak kapcsoltságot. Térképeztünk azonban olyan QTL-eket is, melyek vagy csak a kalászfertőzöttséggel (2D,

4A, 4B, 6B kromoszómán), vagy a szemfertőzöttséggel (2B, 3D, 5A és egy nem azonosítható kromoszómán) szembeni rezisztencia kialakításáért tűntek felelősnek. Ezen QTL-ek közül a 7B kromoszómán azonosított volt átfedésben a kalászolási időponttal kapcsolt kromoszómaszakasszal. Kalászolási időpontra markerek a 1A és 2D kromoszómákon jeleztek. A kalászolási időponton kívül egyéb vizsgált fenotípusos tulajdonsággal kapcsolt kromoszómaszakaszt nem azonosítottunk a növényanyagban.

4. táblázat: Az FHB, FDK, kalászolási időpont (HD) és növénymagasság (PH) adatokkal térképezett QTL-ek markereinek lokalizációja LOD (logarithm of odds) és VE (explained phenotypic variance) értékekkel a Frontana/Remus (A) és a Mini Manó/Frontana populációban (szignifikáns értékek – LOD>2,0 - vastagon szedve)

A	Marker; térkép intervallum	Kromo- szóma	FHB		FDK		HD	
			LOD	VE	LOD	VE	LOD	VE
	<i>Xs13m18_5-Xs12m18_8</i>	2B	2,89	9,0	3,10	9,3	0,11	0,3
	<i>Xgwm526</i>	2B	1,55	4,6	2,59	7,5	0,47	1,4
	<i>Xgwm261</i>	2D	2,19	7,0	0,12	0,7	0,81	2,4
	<i>Xgwm720-Xgwm779</i>	3A	2,30	7,2	2,57	7,8	0,40	1,1
	<i>Xgwm341</i>	3D	1,17	3,5	2,93	8,8	0,02	0,1
	<i>Xwg232</i>	4A	2,76	9,7	0,41	2,0	0,99	4,4
	<i>Xgwm375-Xs13m18_9</i>	4B	3,33	8,9	1,67	4,6	0,36	1,0
	<i>Xgwm293-Xs24m19_5</i>	5A	1,72	5,0	2,93	8,4	0,16	0,4
	<i>Xs13m14_10-Xgwm219</i>	6B	2,26	6,6	0,05	0,1	0,05	0,2
	<i>Xs12m25_2</i>	7B	4,05	11,0	3,88	10,4	0,22	0,6
	<i>Xs12m15_4</i>	ND	0,55	1,6	2,33	6,6	0,25	0,7
	<i>Xs13m14_5a-Xwg983</i>	1A	0,27	0,9	0,00	0,0	3,12	10,1
	<i>Xs25m19_16-Xgwm608</i>	2D	1,39	4,4	0,18	0,6	2,57	8,7
	<i>Xgwm46</i>	7B	0,79	2,6	0,23	0,8	2,87	9,5
B	Marker; térkép intervallum	Kromo- szóma	FHB		FDK		PH	
			LOD	VE	LOD	VE	LOD	VE
	<i>Xgwm293</i>	5A	3,87	13,5	3,42	13,1	3,84	11,4
	<i>Xgwm88-Xgwm644</i>	6B	7,30	21,4	4,58	16,0	1,92	5,4
	<i>Xwmc754</i>	3B	1,73	5,7	1,61	5,2	2,08	6,4

Mennyiségi tulajdonságokért felelős kromoszómaszakaszok a MiniManó/Frontana populációban

A legnagyobb hatású fuzárium rezisztencia QTL-t a 6B kromoszómára térképeztük (*Xgwm88-Xgwm644*), ahol az FHB adatokkal 7,30, míg az FDK adatokkal 4,58 LOD értéket kaptunk. A másik FHB és FDK adatokkal kapcsolt QTL-t az 5A kromoszómán azonosítottuk, mely átfedésben volt azzal a szakasszal, ami a növénymagasság meghatározásáért tűnt felelősnek. Növénymagassággal volt még kapcsolt a 3B kromoszómán térképezett QTL is. A növénymagasságon kívül egyéb fenotípusos tulajdonsággal kapcsolt kromoszómaszakaszt nem azonosítottunk a növényanyagban.

KÖVETKEZTETÉSEK

Dolgozatunk eredményeiből metodikai és rezisztencianemesítési szempontból is fontos következtetések vonhatók le. Módszertani aspektusból bebizonyítottuk azt, hogy a fuzárium rezisztencia QTL-ek szokásosnál (2-3 járványhelyzet) szélesebb körű vizsgálata több populációban és több környezetben, epidémiái szituációban szükségszerű ahhoz, hogy biztosabb következtetéseket tudjunk levonni. Mindez fokozottan érvényes a kis és közepes hatású QTL-ek esetén, amelyek környezeti befolyásolhatósága sokkal nagyobb. A QTL-ek validálásának fontosságát természetesen már más kutatócsoportok is leírták korábban. Mi munkánk során a Frontana fuzárium rezisztenciájának genetikai hátterét két populáción belül, 15 epidémiái szituációban hitelesítettük, figyelembe véve az egyéb fenotípusos tulajdonságok hatását.

A Frontana/Remus populációban kapott eredményeinket összevetetve azzal, melyet STEINER ÉS MTSAI (2004) kaptak ugyanerről a növényanyagról eltérő szántóföldi kísérleti módszert alkalmazva, eltérő ökológiai körülmények között, arra jutottunk, hogy a két eredmény sor meglehetősen jó egyezést mutat. A 2B (*Xs13m18_5-Xs12m18_8*), 3A, 4B, 5A, 6B kromoszómákon azonosított I. típusú rezisztencia QTL-ek, és a 2B kromoszóma *Xgwm526* markerénél azonosított II. típusú rezisztencia QTL volt azonos a két adatsorban, azaz validálható a két ökológiai körülményben. Az általuk térképezett QTL-ek közül az 1B, 2A, 3B kromoszómákon lévő Remus eredetűek nem voltak igazolhatóak a mi szántóföldi adatainkkal, ami arra enged következtetni, hogy különböző környezetben a fogékony szülőtől származó rezisztencia QTL-ek ebben az esetben instabilak voltak.

A szegedi kísérletben vizsgáltuk a szemfertőzöttséget is, melynek eredményeként azonosítottunk olyan QTL-eket melyek csak FDK-val, vagy FDK-val és FHB-val is kapcsolatosak voltak, ami azért is fontos, mert korábban a fuzáriumról szóló irodalomban nem ismertettek Frontana eredetű FDK rezisztenciáért felelős QTL-eket.

Fuzárium rezisztencia QTL-eket a 2B kromoszómán SCHMOLKE ÉS MTSAI (2005) és SRINIVASACHARY ÉS MTSAI (2008) is azonosítottak. Ez utóbbi dolgozatban az általunk *Xs13m18_5* és *Xs12m18_8* markerekkel határolt régiót növénymagassággal kapcsoltnak is leírták.

A kalászfuzárium rezisztenciával kapcsolt QTL a 2D kromoszómán a *Xgwm261* marker régiójában nem volt azonosítható korábban STEINER ÉS MTSAI (2004) fenotípusos adataival. HANDA ÉS MTSAI (2008) azonban megerősítette ennek a régióknak a kapcsoltságát fuzárium rezisztenciával, sőt növénymagassággal is.

STEINER ÉS MTSAI (2004) a 2D kromoszómán virágzási időponttal kapcsoltan írtak le QTL-t. Ez a régió egybe esik azzal, amit mi a kalászoslási időponttal kapcsoltunk azonosítottunk és amelyet YANG ÉS MTSAI (2005), valamint MARDI ÉS MTSAI (2005) *Fusarium* rezisztenciát kódoló szakasznak írt le. Ez utóbbi összefüggés hátterében azonban valószínűleg nem valódi rezisztencia QTL-ek, hanem eltérő szántóföldi tesztelési metodika áll.

A 3A kromoszóma *Xgwm720-Xgwm779* markerek régiója nem csak a mi (és az osztrák) validálási eredményink szerint kapcsolt a *Fusarium* rezisztenciával, hanem BREZONSKY ÉS MTSAI (2007) és MARDI ÉS MTSAI (2006) is közölte, mint Frontana eredetű QTL, ami nem volt kapcsolatban egyéb fenotípusos tulajdonsággal.

A 4B kromoszóma *Xgwm375* és *Xs13m18_9* markerek közötti FHB rezisztenciával kapcsolt régiója szintén azonos volt a STEINER ÉS MTSAI (2004) által közölttel, habár ők növénymagassággal is összefüggőnek találták.

A két gyakran publikált FHB rezisztencia QTL hatását is detektáltuk a Frontana/Remus populációban. Az 5A kromoszóma *Xgwm293-Xs24m19_5* markerek közötti régióját, valamint a 6B kromoszóma *Xs13m14_10-Xgwm219* markerek közötti régióját többek

között STEINER ÉS MTSAI (2004) is leírták korábban. Az általunk térképezett legnagyobb hatású 7B (*Xs12m25_2-Xgwm46*) kromoszómán elhelyezkedő FHB és FDK rezisztencia QTL-t azonban nem írták le az előbb említett dolgozatban. SCHMOLKE ÉS MTSAI (2005) azonban a mi adatainkkal egybehangzó eredményeket kapott, tehát nem csak FHB ellenállósággal, hanem növénymagassággal is kapcsolnak vélte ezt a régiót.

A három kalászoslási időponttal kapcsolt QTL közül csak az utóbb említett 7B kromoszómán található volt átfedésben azzal, melyet FHB rezisztenciával kapcsolnak találtunk. Az 1A és 2D kromoszómán elhelyezkedő régiók nem mutattak ilyen jellegű összefüggést annak ellenére, hogy a különböző fertőzési időpontokban kezelt növények FHB és FDK értékei között szignifikáns különbséget mutattunk ki, és a kalászoslási időpont összefüggést mutatott a korrelációanalízis során a fuzárium rezisztenciával. Ez alapján elmondható, hogy a populációban fellépő fenotípusos hatások nem befolyásolták jelentősen a kísérlet eredményeit.

A Mini Manó/Fontana populációban már azokra a kromoszómákra fókuszáltunk, melyeken korábban Fontana eredetű FHB rezisztencia QTL-t írtak le. Ilyen volt a 3A, 3B, 5A, 6B és a 7A kromoszóma. Eredményink szerint stabil és erős kapcsoltságot véltünk felfedezni az 5A (*Xgwm293*) és 6B (*Xgwm88-Xgwm644*) kromoszóma egyes régiói és a fuzárium adatok között. Ez a kapcsoltság jelen volt az FHB és FDK adatoknál is.

Annak ellenére, hogy virágzási időpont tekintetében homogénebb populációban vizsgáltuk a Fontana eredetű fuzárium rezisztencia QTL-eket szignifikáns különbséget véltünk felfedezni a különböző fertőzési időpontú csoportok között. Mindez nem jelentkezett a térképezés eredményében, mivel a rezisztencia QTL-ek nem mutattak átfedést azokkal a szakaszokkal, melyek a kalászoslási időponttal lettek volna kapcsolatosak.

Az előbbi megállapítás azonban nem igaz a növénymagasságot illetően, mellyel kapcsolt régiót azonosítottunk az 5A azon kromoszómaszakaszán, ahol FHB és FDK rezisztencia QTL-t detektáltunk. Erre a megállapításra jutott STEINER ÉS MTSAI (2004) és mi is a Fontana/Remus populáció vizsgálata során. Eredményink megerősítették GERVAIS ÉS MTSAI (2003) megállapítását is, miszerint az előbb említett szakaszon két független QTL van: egy fuzárium rezisztenciával és egy növénymagassággal kapcsolt.

A Fontana eredetű 6B kromoszóma fuzárium rezisztenciát kódoló szakaszának (irodalomban *Fhb2*-ként említett szakasz) hatását a Mini Manó/Fontana populációban is sikerült megerősítenünk az után, hogy már Fontana/Remus populációban mi és az osztrák kutatócsoport is azonosította (STEINER ÉS MTSAI, 2004)

További QTL-t azonosítottunk növénymagasságra a 3B kromoszóma azon régióján, melyet korábban fuzárium rezisztenciával kapcsolatban már többen leírtak, és *Fhb1* QTL-nek nevezték el (WALDRON ÉS MTSAI 1999, CUTHBERT ÉS MTSAI 2006). Azonban az *Fhb1*, ill. az itt 3B kromoszómán azonosított QTL azonossága kétséges. Ezt támasztja alá az is, hogy az *Fhb1* terjedéssel szembeni nagyhatású QTL (2. rezisztenciatípus), míg a Fontana QTL 1-es rezisztenciatípusú QTL-ekkel rendelkezik (Steiner et al. 2004),

A saját eredményeink és STEINER ÉS MTSAI (2004) által publikált adatok alapján a Fontana/Remus populációban több környezetben is hatásos volt a 3A kromoszómán lévő fuzárium rezisztencia QTL, melynek létezését a Mini Manó/Fontana populációban nem lehetett igazolni annak ellenére, hogy már többen leírták, mint Fontana eredetű QTL (MARDI ÉS MTSAI, 2006; SRINIVASACHARY ÉS MTSAI, 2008).

Munkánk során arra a következtetésre jutottunk, hogy a Fontana/Remus populációban az osztrák kutatócsoport (IFA-Tulln) és az általunk (CRC-Szeged) alkalmazott szántóföldi fuzárium rezisztenciatesztelési metodika megfelelő a térképezési munkákhoz, mivel a két csoport eredményei nagyrészt egybeesőek voltak.

Továbbá validáltunk két olyan Fontana eredetű fuzárium rezisztencia QTL-t, mely jelen volt mindkét populációban, az összes kísérleti körülmény során. A 6B kromoszómán

elhelyezkedő nagyhatású FHB és FDK rezisztencia QTL-hez legközelebbi marker az *Xgwm644*, az 5A kromoszómán lévőhöz pedig az *Xgwm293* SSR marker volt. Eredményeink szerint a búzanemesítés során markerekkel támogatott szelekcióra alkalmazható az előbb említett két marker. Mindazonáltal a fuzárium ellenállóság hátterében nem egy, vagy két gén vesz részt, hanem több kis-, vagy közepes hatású gén kölcsönhatásaként alakul ki, melyek a morfológiai tulajdonságokkal is kapcsolatosak lehetnek.

Köszönetnyilvánítás: Ez a munka az FP5 FUCOMYR, az FP7 MYCORED projektek és a DEAK Zrt. támogatásával jött létre.

IRODALOMJEGYZÉK

- Anderson, J. A., Stack, R. W., Liu, S., Waldron, B. L., Fjeld, A. D., Coyne, C., Moreno-Sevilla, B., Fetch, J. M., Song, Q. J., Cregan, P. B. & Froberg, R. C. (2001) DNA markers for Fusarium head blight resistance QTLs in two wheat populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 102: 1164-1168.
- Berzonsky, W.A., Gebhard, B.L., Gamotin, E., Leach, G.D., Ali, S. (2007) A reciprocal backcross monosomic analysis of the scab resistant spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar, 'Frontana'. *Plant Breeding* 126: 234-239.
- Békési P. (2010) Ismét a kalászfuzárióziszról. *Agrofórum* 1: 53-55. p
- Buerstmayr, H., Ban, T. & Anderson, J. A. (2009) QTL mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat: a review. *Plant Breeding*, 128: 1-26.
- Buerstmayr, H., Lemmens, M., Hartl, L., Doldi, L., Steiner, B., Stierschneider, M. & Ruckebauer, P. (2002) Molecular mapping of QTLs for Fusarium head blight resistance in spring wheat. I. Resistance to fungal spread (type II resistance). *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 84-91.
- Buerstmayr, H., Steiner, B., Hartl, L., Griesser, M., Angerer, N., Lengauer, D., Miedaner, T., Schneider, B. & Lemmens, M. (2003) Molecular mapping of QTLs for Fusarium head blight resistance in spring wheat. II. Resistance to fungal penetration and spread. *Theoretical and Applied Genetics*, 107: 503-508.
- Cuthbert, P. A., Somers, D. J., Thomas, J., Cloutier, S. & Brule-Babel, A. (2006) Fine mapping Fhb1, a major gene controlling fusarium head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 112: 1465-1472.
- Deák T. (2006) Élelmiszer-mikrobiológia. Mezőgazda Kiadó, 382. p
- Draeger, R., Gosman, N., Steed, A., Chandler, E., Thomsett, M., Srinivasachary, Schondelmaier, J., Buerstmayr, H., Lemmens, M., Schmolke, M., Mesterhazy, A. & Nicholson, P. (2007) Identification of QTLs for resistance to Fusarium head blight, DON accumulation and associated traits in the winter wheat variety Arina. *Theoretical and Applied Genetics*, 115: 617-625.
- Gervais, L., Dedryver, F., Morlais, J. Y., Bodusseau, V., Negre, S., Bilous, M., Groos, C. & Trottet, M. (2003) Mapping of quantitative trait loci for field resistance to Fusarium head blight in an European winter wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 961-970.
- Gupta, P. K., Langridge, P. & Mir, R. R. (2010) Marker-assisted wheat breeding: present status and future possibilities. *Molecular Breeding*, 26: 145-161.
- Handa, H., Namiki, N., Xu, D. & Ban, T. (2008) Dissecting of the FHB resistance QTL on the short arm of wheat chromosome 2D using a comparative genomic approach: from QTL to candidate gene. *Molecular Breeding*, 22: 71-84.

- Lemmens, M., Scholz, U., Berthiller, F., Dall'Asta, C., Koutnik, A., Schuhmacher, R., Adam, G., Buerstmayr, H., Mesterhazy, A., Krska, R. & Ruckebauer, P. (2005) The ability to detoxify the mycotoxin deoxynivalenol colocalizes with a major quantitative trait locus for fusarium head blight resistance in wheat. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 18: 1318-1324.
- Liu, S., Abate, Z. A., Lu, H., Musket, T., Davis, G. L. & McKendry, A. L. (2007) QTL associated with Fusarium head blight resistance in the soft red winter wheat Ernie. *Theoretical and Applied Genetics*, 115: 417-427.
- Mardi, M., Buerstmayr, H., Ghareyazie, B., Lemmens, M., Mohammadi, S. A., Nolz, R. & Ruckebauer, P. (2005) QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in wheat using a 'Wangshuibai'-derived population. *Plant Breeding*, 124: 329-333.
- Mardi, M., Pazouki, L., Delavar, H., Kazemi, M. B., Ghareyazie, B., Steiner, B., Nolz, R., Lemmens, M. & Buerstmayr, H. (2006) QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in wheat using a 'Frontana'-derived population. *Plant Breeding*, 125: 313-317.
- McCartney, C. A., Somers, D. J., Fedak, G. & Cao, W. (2004) Haplotype diversity at fusarium head blight resistance QTLs in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 261-271.
- Mesterhazy, A. (1985) Effect of seed production area on the seedling resistance of wheat to Fusarium seedling blight. *Agronomie*, 5: 491-497.
- Mesterhazy, A. (1987) Selection of head blight resistant wheats through improved seedling resistance. *Plant Breeding*, 98: 25-36.
- Mesterhazy, A. (1995) Types and components of resistance to Fusarium head blight of wheat. *Plant Breeding*, 114: 377-386.
- Nyquist, W. E. (1991) Estimation of heritability and prediction of selection response in plant-populations. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 10: 235-322.
- Purnhauser, L., Bona, L. & Lang, L. (2011) Identification of Sr31 and Sr36 Stem Rust Resistance Genes in Wheat Cultivars Registered in Hungary. *Cereal Research Communications*, 39: 53-66.
- Roder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M. H., Leroy, P. & Ganal, M. W. (1998) A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 149: 2007-2023.
- Ruckebauer, P., Buerstmayr, H. & Lemmens, M. (2001) Present strategies in resistance breeding against scab (Fusarium spp.). *Euphytica*, 119: 121-127.
- Schmolke, M., Zimmermann, G., Buerstmayr, H., Schweizer, G., Miedaner, T., Korzun, V., Ebmeyer, E. & Hartl, L. (2005) Molecular mapping of Fusarium head blight resistance in the winter wheat population Dream/Lynx. *Theoretical and Applied Genetics*, 111: 747-756.
- Schroeder, H.W., and Christensen, J.J. (1963) Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. *Phytopathology* 53:831-838.
- Salameh, A., Buerstmayr, M., Steiner, B., Neumayer, A., Lemmens, M. and Buerstmayr, H. (2010) Effects of introgression of two QTL for fusarium head blight resistance from Asian spring wheat by marker-assisted backcrossing into European winter wheat on fusarium head blight resistance, yield and quality traits. *Mol Breeding Online First*TM, 2 September 2010.
- Singh, R. P., Ma, H. & Rajaram, S. (1995) Genetic-analysis of resistance to scab in spring wheat cultivar Frontana. *Plant Disease*, 79: 238-240.
- Somers, D. J., Fedak, G. & Savard, M. (2003) Molecular mapping of novel genes controlling Fusarium head blight resistance and deoxynivalenol accumulation in spring wheat. *Genome*, 46: 555-564.

- Somers, D. J., Isaac, P. & Edwards, K. (2004) A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 1105-1114.
- Srinivasachary, Gosman, N., Steed, A., Faure, S., Bayles, R., Jennings, P. & Nicholson, P. (2008) Mapping of QTL Associated with Fusarium Head Blight in Spring Wheat RL4137. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 44: 147-159.
- Steiner, B., Lemmens, M., Griesser, M., Scholz, U., Schondelmaier, J. & Buerstmayr, H. (2004) Molecular mapping of resistance to Fusarium head blight in the spring wheat cultivar Frontana. *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 215-224.
- Szabo-Hever, A., Toth, B., Lehoczki-Krsjak, S. & Mesterhazy, A. (2008) Mapping of FHB resistance QTLs in the Mini Mano/Frontana and Frontana/Remus DH populations. *Cereal Research Communications*, 36: 271-275.
- VanGinkel, M., VanderSchaar, W., Yang, Z. P. & Rajaram, S. (1996) Inheritance of resistance to scab in two wheat cultivars from Brazil and China. *Plant Disease*, 80: 863-867.
- Van Ooijen, J.W. and Voorrips, R.E. (2001) JoinMap Version 3.0: Software for the calculation of genetic linkage maps. Plant Research International, Wageningen, the Netherlands.
- Van Ooijen, J.W. (2004) MapQTL Version 5: Software for the mapping of quantitative trait loci in experimental populations. Plant Research International, Wageningen, the Netherlands.
- von der Ohe, C., Ebmeyer, E., Korzun, V. & Miedaner, T. (2010) Agronomic and Quality Performance of Winter Wheat Backcross Populations Carrying Non-Adapted Fusarium Head Blight Resistance QTL. *Crop Science*, 50: 2283-2290.
- Waldron, B. L., Moreno-Sevilla, B., Anderson, J. A., Stack, R. W. & Frohberg, R. C. (1999) RFLP mapping of QTL for fusarium head blight resistance in wheat. *Crop Science*, 39: 805-811.
- Yang, Z. P., Gilbert, J., Fedak, G. & Somers, D. J. (2005) Genetic characterization of QTL associated with resistance to Fusarium head blight in a doubled-haploid spring wheat population. *Genome*, 48: 187-196.
- Yu, J. B., Bai, G. H., Cai, S. B. & Ban, T. (2006) Marker-assisted characterization of Asian wheat lines for resistance to Fusarium head blight. *Theoretical and Applied Genetics*, 113: 308-320.